

Zespół Kliniczno-Badawczy Fizjologii Stosowanej
Prof. dr hab. n.med. Małgorzata Frontczak-Baniewicz
e-mail: mbaniewicz@imdik.pan.pl

Warszawa, 16.03.2026 r.

Recenzja dorobku naukowego oraz osiągnięcia naukowego p.t.:
**„Zmiany mikroskopowo-ultrastrukturalne i biochemiczne w wątrobie wywołane
czynnikami fizycznymi i chemicznymi analizowane w doświadczalnym modelu
myszy,” w postępowaniu habilitacyjnym**

Sylwetka i kariera naukowa Habilitantki

Dr n. biol. Małgorzata Łysek-Gładysińska ukończyła studia w 1997 roku w Wyższej Szkole Pedagogicznej im. Jana Kochanowskiego w Kielcach (obecnie Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach), uzyskując tytuł magistra biologii na podstawie pracy dyplomowej pt. *„Wpływ różnych dawek taksolu na zmiany ultrastrukturalne w hepatocytach myszy”*.

Od października 1997 do lutego 1998 roku pracowała jako asystent w Zakładzie Biologii Komórki i Mikroskopii Elektronowej (obecnie Zakład Biologii Medycznej) Instytutu Biologii WSP w Kielcach. Następnie przez pięć lat była młodszym asystentem w Laboratorium Wód Powierzchniowych i Ścieków Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej w Kielcach.

W latach 2002–2004 pracowała jako specjalista biolog w Zakładzie Biologii Komórki i Mikroskopii Elektronowej Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach. W 2004 roku obroniła pracę doktorską pt. *„Wpływ dehydroepiandrosteronu i melatoniny na zmiany biochemiczne i morfologiczne w wątrobie myszy”*, której promotorem był prof. dr hab. Adam Kołataj. Od 2004 roku do chwili obecnej zatrudniona jest na stanowisku adiunkta w Zakładzie Biologii Medycznej Instytutu Biologii Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach. W 2009 roku dr Małgorzata Łysek-Gładysińska ukończyła studia podyplomowe na Wydziale Zarządzania i Administracji, Uniwersytetu Humanistyczno-Przyrodniczego w Kielcach „Menadżer

komercjalizacji i transferu wiedzy” i obroniła pracę dyplomową pt: „*Alkaloidy izochinolinowe jako potencjalne leki w terapii onkologicznej*”.

Śledząc przebieg edukacji i kariery zawodowej dr Małgorzaty Łysek-Gładysińskiej, można wyróżnić główne nurty jej zainteresowań naukowo-badawczych. Po uzyskaniu stopnia doktora nauk biologicznych kontynuowała badania nad wpływem promieniowania jonizującego na cechy morfologiczne i biochemiczne komórek w warunkach *in vivo* i *in vitro*, stosowanego zarówno w terapii onkologicznej, jak i nieonkologicznej. Ponadto, oceniała efekt stosowania związków roślinnych o potencjalnych właściwościach leczniczych na wybrane parametry morfologiczne i biochemiczne w tkance wątrobowej myszy, a także prowadziła badania nad zmianami związanymi ze starzeniem się organizmu myszy o zróżnicowanym tle genetycznym.

Od 2013 roku Habilitantka współpracuje z dr hab. Arturem Jóźwikiem z Instytutu Genetyki i Biotechnologii Zwierząt PAN w Jastrzębcu. Ta współpraca naukowa zaowocowała opublikowaniem siedmiu manuskryptów publikacji, w tym czterech wchodzących w skład cyklu habilitacyjnego. Kolejne staże w Instytucie Genetyki i Biotechnologii Zwierząt umożliwiły Habilitantce współudział w badaniach i przygotowaniu czterech prac przeglądowych poświęconych roślinnym związkom o potencjalnych właściwościach leczniczych, takim jak berberyna, antocjany, imbir czy produkty żywności funkcjonalnej.

Odbywając staże naukowe w Centrum Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie Oddział w Gliwicach (obecnie Narodowe Centrum Onkologii), dr Małgorzata Łysek-Gładysińska nawiązała współpracę z radiobiologiem dr hab. Dorotą Gabryś. Wspólne badania obejmowały udział Habilitantki w międzynarodowym grancie Euratom 7th Framework Programme for Nuclear Research and Training, w ramach którego realizowała zadanie dotyczące analiz profilu zmian ultrastrukturalnych w hepatocytach i kardiomiocytach oraz zmian parametrów biochemicznych w wątrobie myszy po napromienianiu obszaru serca. Wyniki tych badań zostały zaprezentowane w publikacjach wchodzących w skład cyklu habilitacyjnego oraz na licznych konferencjach naukowych. Kolejny wspólnie realizowany temat badawczy dotyczył toksycznego działania promieniowania jonizującego i antracyklin na układ sercowo-naczyniowy w ramach projektu MNiSW. Wyniki tych badań Habilitantka prezentowała na kongresach, a obecnie przygotowuje publikację.

Oprócz badań ściśle związanych z głównym nurtem swoich zainteresowań Habilitantka uczestniczyła również w projekcie NCN (2013/11/B/NZ7/01512), współpracując z prof. Moniką Pietrowską z Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Nowotworów Centrum Onkologii w Gliwicach (obecnie Narodowy Instytut Onkologii). W ramach tego projektu realizowała zadanie dotyczące analiz egzosomów uwalnianych z komórek raka głowy i szyi w odpowiedzi na czynniki genotoksyczne. Habilitantka przeprowadzała szczegółową analizę ultrastruktury egzosomów przy użyciu transmisyjnego mikroskopu elektronowego, zarówno w próbkach uzyskanych z hodowli komórkowych *in vitro*, jak i w surowicy krwi pacjentów.

Kontynuując tematykę związaną z promieniowaniem jonizującym w 2020 roku Habilitantka podjęła współpracę z grupą badawczą prof. Andrzeja Wójcika z University of Stockholm, Department of Molecular Biosciences, The Wenner-Gren Institute, oraz dr hab. Beatą Brzozowską z Zakładu Fizyki Biomedycznej Uniwersytetu Warszawskiego. Jej efektem jest publikacja: „Akuwudike P, López-Riego M, Ginter J, Cheng L, Wiczorek A, Życieńska K, Łysek-Gładysińska M, Wojcik A, Brzozowska B, Lundholm L. *Mechanistic insights from high resolution DNA damage analysis to understand mixed radiation exposure*” DNA Repair (Amst). 2023 Oct;130:103554.

W 2023 roku Habilitantka nawiązała międzynarodową współpracę z grupą badawczą z University de Alcalá z Hiszpani, co dało początek nowemu nurtowi Jej badań związanych z opornością bakterii Gram-ujemnych na antybiotyki oraz poszukiwaniu alternatywnych metod ich zwalczania. Badania te koncentrują się na analizie mechanizmów transportu lizozymu przy użyciu dwóch typów karbosilanowych dendronizowanych nanocząstek srebra (DendAgNP), zarówno niemodyfikowanych glikolem polietylenowym (PEG), jak i PEGylowanych (PEG-DendAgNP), w celu zwiększenia przepuszczalności błony zewnętrznej bakterii oraz degradacji peptydoglikanu. Wyniki badań zostały opublikowane w pięciu oryginalnych pełnotekstowych publikacjach naukowych.

Habilitantka podjęła również współpracę z grupą badawczą ze Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Wspólne badania koncentrowały się na poszukiwaniu najskuteczniejszych źródeł selenu (Se) do zastosowań komercyjnych, a dr Małgorzata Łysek-Gładysińska zajmowała się oceną zmian ultrastrukturalnych

sarkomerów mięśni piersiowych oraz komórek wątrobowych kurcząt brojlerów. Wyniki badań zostały opublikowane w kolejnej oryginalnej pracy naukowej: „Bień D, Michalczuk M, Łysek-Gładysińska M, Józwik A, Wieczorek A, Matuszewski A, Kinsner M, Konieczka P. „*Nano-Sized Selenium Maintains Performance and Improves Health Status and Antioxidant Potential While Not Compromising Ultrastructure of Breast Muscle and Liver in Chickens*. *Antioxidants (Basel)*”. 2023 Apr 10;12(4):905, doi: 10.3390/antiox12040905.

Kolejna aktywność naukowa dr Małgorzaty Łysek-Gładysińskiej związana jest z realizacją badań w trakcie pandemii wywołanej przez wirus SARS-CoV-2, który powoduje zachorowania na COVID-19. W 2021 roku podjęła współpracę z Medycznym Laboratorium Diagnostycznym Meduniv Sp. z o.o. w Kielcach, gdzie doskonaliła umiejętności w zakresie procedur diagnostyki molekularnej, obejmującej przygotowanie próbek biologicznych oraz prowadzenie reakcji PCR. W materiale biologicznym (RNA wirusa SARS-CoV-2) wyizolowanym od pacjentów chorych na COVID-19 analizowała zmienności genu *RdRp* w korelacji z różnym przebiegiem klinicznym choroby. Habilitantka analizowała wyniki badań zarówno w celach diagnostycznych, jak i naukowych, a uzyskane dane zostały opublikowane w oryginalnej publikacji naukowej.

W kolejnej fazie badań, po wprowadzeniu szczepień przeciwko COVID-19, prowadziła także analizę zależności między podaniem trzeciej dawki szczepionki a dynamiką poziomów przeciwciał IgG przeciwko białku kolca (S) wirusa SARS-CoV-2 u osób zdrowych. Wyniki tych analiz zostały opublikowane w kolejnej pracy naukowej: Majchrzak M., Madej Ł., Łysek-Gładysińska M., Zarębska-Michaluk D., Zegadło K., Dziuba A., Nogal-Nowak K., Kondziołka W., Sufin I., Myszone-Tarnowska M., Jaśkowski M., Kędzierski M., Maciukajć J., Matykiewicz J., Głuszek S., Adamus-Białek W. *The RdRp genotyping of SARS-CoV-2 isolated from patients with different clinical spectrum of COVID-19*.

Dr Małgorzata Łysek-Gładysińska brała udział w czterech projektach badawczych finansowanych ze środków zewnętrznych jako wykonawca zadania, odpowiadając za pełne przygotowanie materiału do obserwacji i analiz mikroskopowych oraz za interpretację uzyskanych wyników. Ponadto, kierowała piętnastoma projektami badawczymi finansowanymi ze środków własnych

Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach, a w sześciu projektach była członkiem zespołu badawczego.

Dr Małgorzata Łysek-Gładysińska brała udział w dziewięciu stażach naukowych krajowych oraz trzech stażach zagranicznych. W latach 2012–2024, w ramach podnoszenia kwalifikacji, uczestniczyła w dziewięciu szkoleniach oraz odbyła dwumiesięczny wolontariat w Laboratorium Inżynierii Tkankowej i Banku Tkanek w Centrum Naukowo-Badawczym Artmedik Sp. z o.o. w Kielcach.

Ponadto, recenzowała pięć artykułów naukowych publikowanych w czasopiśmie „Animal Sciences Paper and Reports”, „Acta Biochemica Polonica” oraz „Studia Medyczne”.

Ocena dorobku naukowego

Całkowity dorobek naukowy dr Małgorzaty Łysek-Gładysińskiej (wg. analizy bibliometrycznej przygotowanej przez Bibliotekę UJK w Kielcach z dnia 06.09.2025 r.) to 33 publikacje oraz 58 komunikatów prezentowanych na konferencjach naukowych krajowych, krajowych o zasięgu międzynarodowym oraz zagranicznych.

Sumaryczny Impact Factor za całokształt dorobku naukowego wynosi według listy Journal Citation Reports -135.158 oraz 2597 punktów według punktacji MNiSW (w tym przed uzyskaniem stopnia doktora IF=0/22 pkt. MNiSW). Analiza publikacji wg Web of Science Core Collection wykazała - 322 cytowania (303 bez autocytowań), indeks Hirscha 11.

Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

Osiągnięcia dydaktyczne

Dr Małgorzata Łysek-Gładysińska prowadziła wykłady, ćwiczenia i zajęcia laboratoryjne na wielu kierunkach kształcenia. Na kierunku lekarskim realizowała zajęcia z zakresu podstaw biologii komórki (laboratoria i ćwiczenia), ultrastruktury komórki (wykłady, laboratoria, ćwiczenia) w języku polskim i angielskim oraz cytofizjologii w języku angielskim (wykłady, laboratoria, ćwiczenia). Na kierunku biologia prowadziła laboratoria z biologii komórki dla studentów III roku, wykłady

i konwersatoria z podstaw gerontologii; wykłady z regulacji sygnalizacji komórkowej na studiach doktoranckich, wykłady i laboratoria z podstaw technik mikroskopowych oraz wykłady z nowoczesnych technik mikroskopowych dla studentów V roku. Na kierunku biotechnologia realizowała laboratoria z biologii komórki oraz wykłady i laboratoria z technik mikroskopowych w języku polskim i angielskim. Na kierunku kosmetologia prowadziła laboratoria z cytofizjologii, natomiast w ramach informatycznych systemów diagnostycznych prowadziła wykłady z zakresu mikroskopii w medycynie dla studentów II roku.

W latach 2006–2025 była promotorem 30 prac magisterskich i 27 prac licencjackich, a także recenzentem kilkunastu prac magisterskich i licencjackich.

Dr Małgorzata Łysek-Gładysińska była recenzentem 4 prac olimpijskich uczniów szkół średnich na Zawodach Okręgowych Olimpiady Biologicznej (II stopnia) w latach 2020–2022. W 2021 roku była członkiem Komitetu Okręgowego Olimpiady Biologicznej w ramach której sprawowała opiekę i nadzorowała przebieg egzaminu na etapie okręgowym w formie *online*.

Habilitantka uczestniczyła w 3 programach Unii Europejskiej Erasmus+ w Università Degli Studi Della Tuscia Di Viterbo, Viterbo, Włochy (2 razy) i Shibaura Institute of Technology, Tokyo, Japoni (1 raz) w trakcie których prowadziła zajęcia dydaktyczne w języku angielskim dla studentów i pracowników.

Obecnie jest promotorem pomocniczym rozprawy doktorskiej mgr Karoliny Lach w Instytucie Biologii UJK w Kielcach, której obrona przewidziana jest na maj 2026 roku.

Osiągnięcia organizacyjne

Na podkreślenie zasługuje działalność organizacyjna i popularyzatorska dr Małgorzaty Łysek-Gładysińskiej. Habilitantka jest członkiem czterech towarzystw naukowych: Świętokrzyskiego Oddziału Towarzystwa Epidemiologów i Lekarzy Chorób Zakaźnych, Polskiego Towarzystwa Diagnostów Laboratoryjnych (PTDL), Stowarzyszenia na Rzecz Wspierania Badań nad Rakiem z siedzibą w Gliwicach oraz Polskiego Towarzystwa Badań Radiacyjnych im. Marii Skłodowskiej-Curie.

W latach 2022–2024 pełniła funkcję przewodniczącej i członka Zespołu Ewaluacji Jakości Kształcenia (ZEIK) na Wydziale Nauk Ścisłych i Przyrodniczych.

Od 2024 roku pełni rolę koordynatora ds. Nocy Biologów w Instytucie Biologii Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach. Była członkiem Rady Instytutu

Biologii UJK w latach 2005–2011 oraz 2020–2024, a także członkiem Rady Wydziału Matematyczno-Przyrodniczego UJK w latach 2012–2020, gdzie pełniła funkcję przewodniczącej Komisji Skrutacyjnej oraz sekretarza Rady w latach 2018–2020.

W 2017 roku została powołana na stanowisko koordynatora współpracy międzynarodowej pomiędzy Uniwersytetem Jana Kochanowskiego w Kielcach a Università Degli Studi Tuscia w Viterbo.

W latach 2006–2008 kierowała studiami podyplomowymi „Biologia z elementami diagnostyki” w Instytucie Biologii UJK. Jej działalność naukowa i organizacyjna łączy w sobie zarówno rozwój badań, jak i popularyzację nauki oraz wspieranie jakości kształcenia.

Osiągnięcia w zakresie popularyzacji nauki

Habilitantka aktywnie angażowała się w popularyzację nauki wśród młodzieży licealnej, prowadząc weekendowe zajęcia w ramach programu PO.03.01.00-00-C070/16 „Uniwersytet Młodych” w grudniu 2020 i styczniu 2021. W latach 2010–2025 organizowała i prowadziła warsztaty dla młodzieży w ramach cyklicznego wydarzenia „Noc Biologów” w Instytucie Biologii, a w 2024–2025 roku prowadziła laboratoria i warsztaty w ramach programu „Dzisiaj uczeń, jutro student”. Jej działalność popularyzatorska pozwalała młodzieży zdobywać praktyczne umiejętności laboratoryjne, poznawać tajniki biologii komórki i mikroskopii, a także wzbudzać zainteresowanie nauką i karierą naukową.

Habilitantka została uhonorowana Brązowym Medalem za długoletnią służbę w 2014 roku, a także otrzymała Nagrodę Indywidualną I stopnia Rektora Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach za wyróżniające osiągnięcia naukowe w roku akademickim 2023/2024. W 2024 roku uzyskała również nominację Kapituły Redakcji „Echa Dnia” do tytułu Osobowość Roku w kategorii Nauka.

Ocena osiągnięcia naukowego zgodnie z art. 219 ustawy „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce”

Osiągnięcie naukowe pt. *„Zmiany mikroskopowo-ultrastrukturalne i biochemiczne w wątrobie wywołane czynnikami fizycznymi i chemicznymi analizowane w doświadczalnym modelu myszy”*, składa się z 6 powiązanych tematycznie artykułów naukowych, które zostały opublikowane w latach 2018-2024.

W swoim osiągnięciu naukowym Habilitanta skupiła się na tematyce związanej z dwoma głównymi zagadnieniami dotyczącymi:

- wczesnych i późnych efektów oddziaływania promieniowania jonizującego na cechy morfologiczne i biochemiczne w tkance wątrobowej, ze szczególnym uwzględnieniem ultrastruktury młodych i starzejących się, zróżnicowanych genetycznie hepatocytów myszy.
- efektów oddziaływania substancji chemicznych pochodzenia roślinnego na cechy biochemiczno-morfologiczne w wątrobie myszy.

Sumaryczny Impact Factor przedstawionego cyklu publikacji według listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania, wynosi 25,297 co odpowiada 540 punktom MNiSW. W pracach przedłożonego cyklu dr Małgorzata Łysek-Gładysińska jest 3 razy pierwszym autorem, 2 razy drugim autorem i jeden raz trzecim autorem oraz 3 razy autorem korespondencyjnym.

Do wniosku o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego dołączone zostały oświadczenia Habilitantki, oświadczenia współautorów precyzujące ich udział w przedłożonych publikacjach. Zgodnie z informacjami potwierdzonymi w oświadczeniach udział Habilitantki w przedstawionych publikacjach był wiodący/znaczący i polegał na opracowaniu koncepcji pracy, zdefiniowaniu celu badawczego, ustaleniu metod badawczych, zaplanowaniu badań oraz przygotowaniu manuskryptów prac.

W pierwszej publikacji cyklu habilitacyjnego (P1): Lysek-Gladysinska M. i wsp. „*Long-term effects of low-dose mouse liver irradiation involve ultrastructural and biochemical changes in hepatocytes that depend on lipid metabolism*” (P1) przedstawiono długoterminowe skutki niskodawkowego napromieniania wątroby u myszy, ze szczególnym uwzględnieniem zmian ultrastrukturalnych i biochemicznych zachodzących w hepatocytach.

W badaniu zastosowano promieniowanie rentgenowskie generowane przez aparat YXLON MG325, pracujący przy napięciu 200 kV i natężeniu prądu lampy 20 mA, z filtrem wiązki 0,6 cm Cu, co odpowiadało mocy dawki 0,8 Gy/min. Taki sposób napromieniania serca powodował jednocześnie niewielką ekspozycję

wątroby na promieniowanie, w dawkach nieprzekraczających odpowiednio 30 oraz 120 mGy.

Analizie poddano cechy ultrastrukturalne i biochemiczne w tkance wątroby myszy z niedoborem apolipoproteiny E (ApoE^{-/-}) oraz myszy szczepu dzikiego (C57BL/6J), posiadających prawidłowy poziom apolipoproteiny E. Oceny dokonano po 60 tygodniach od ekspozycji na promieniowanie. Wykazano, że u myszy ApoE^{-/-} dochodziło do istotnego wzrostu liczby złogów lipidowych w hepatocytach, przy czym ich liczba zwiększała się wraz ze wzrostem dawki promieniowania jonizującego. Ponadto, zaobserwowano wzrost liczby lizosomów pierwotnych oraz wakuoli autofagowych zawierających uszkodzone mitochondria u obu badanych szczepów myszy.

Badania biochemiczne wykazały niższy poziom markerów uszkodzenia wątroby w osoczu myszy z prawidłową ekspresją apolipoproteiny E, co wskazuje na większą odporność hepatocytów tych zwierząt na zmiany wywołane promieniowaniem. Natomiast w osoczu napromieniowanych myszy ApoE^{-/-} stwierdzono podwyższony poziom lipazy wątrobowej, co potwierdza zwiększoną akumulację lipidów oraz uszkodzenie hepatocytów indukowane promieniowaniem.

Praca łączy ultrastrukturalne obserwacje mikroskopowe z analizą biochemiczną, ukazując mechanizmy molekularne i komórkowe długoterminowych skutków niskodawkowej radiacji w kontekście metabolizmu lipidów. Habilitantka po raz pierwszy wykazała występowanie tego typu zmian strukturalnych i funkcjonalnych w hepatocytach myszy, związanych z ogólnoustrojowym uszkodzeniem wywołanym przez niskie i umiarkowane dawki promieniowania X dostarczane do serca. W pracy wykazano również istnienie funkcjonalnej interakcji między morfologicznym uszkodzeniem hepatocytów u myszy z niedoborem apolipoproteiny E (ApoE^{-/-}) po napromieniowaniu serca, w tym akumulacją uszkodzonych mitochondriów, gromadzeniem lipidów i zmianami w aktywności enzymów lizosomalnych, które wskazują na zahamowanie autofagii lizosomalnej. Dr Małgorzata Łysek-Gładysińska potwierdziła ponadto istnienie związku pomiędzy uszkodzeniem serca wywołanym promieniowaniem a funkcjonowaniem wątroby, co ma istotne znaczenie w kontekście zapewnienia bezpiecznej i skutecznej radioterapii.

W drugiej publikacji cyklu habilitacyjnego (P2): „Wieczorek A, Lysek-Gładysinska M, Walaszczyk A, Jelonek K, Smolarz M, Pietrowska M, Gabrys D, Kulik R, Widlak P. *Changes in activity and structure of lysosomes from liver of mouse irradiated in vivo*”, Habilitantka analizowała krótkoterminowe (kilkugodzinne) efekty oddziaływania promieniowania jonizującego na aktywność enzymów lizosomalnych oraz morfologię komórek wątroby myszy C57BL/6J. Badanie obejmowało ocenę morfologii i ultrastruktury komórek wątrobowych z wykorzystaniem mikroskopii świetlnej i elektronowej, pomiar aktywności wybranych hydrolaz lizosomalnych w różnych punktach czasowych po napromienianiu (1 Gy), a także analizę markerów autofagii (LC3-II, p62) metodą Western blot.

Wykazano, że napromienianie wątroby myszy *in vivo* prowadzi do zwiększenia liczby wakuoli autofagicznych w hepatocytach, zwłaszcza autolizosomów, których dominującą zawartością są uszkodzone mitochondria. W badaniu stwierdzono również wzrost aktywności hydrolaz lizosomalnych po ekspozycji na promieniowanie. Jednocześnie, pomimo akumulacji autofagicznych wakuoli, poziomy markerów autofagii (LC3-II i p62) nie uległy istotnym zmianom, co sugeruje, że promieniowanie może hamować końcowy etap procesu autofagii. Wnioski z pracy wskazują, że napromienianie wątroby prowadzi do aktywacji lizosomów oraz gromadzenia autolizosomów, jednak nie skutkuje pełną aktywacją szlaku autofagii, co może mieć znaczenie dla mechanizmów uszkodzenia popromiennego wątroby. W analizie ultrastrukturalnej wykazano zwiększoną liczbę autofagosomów zawierających uszkodzone mitochondria, przy braku cech nasilonej degradacji lizosomalnej. Wyniki te zostały potwierdzone analizą markerów autofagii (LC3-II i p62), co pozostaje w zgodzie z obserwowanymi zmianami ultrastrukturalnymi hepatocytów.

Na podkreślenie zasługuje nowatorski charakter pracy, która jako jedna z pierwszych szczegółowo dokumentuje ultrastrukturalne i funkcjonalne zmiany lizosomów w wątrobie po niskodawkowej ekspozycji na promieniowanie. Autorka połączyła analizę morfologiczną z oceną aktywności enzymatycznej oraz markerów autofagii, wskazując na specyficzny mechanizm odpowiedzi komórkowej. Uzyskane wyniki mogą mieć istotne znaczenie dla lepszego zrozumienia mechanizmów

radiacyjnego uszkodzenia wątroby oraz jego potencjalnych konsekwencji klinicznych.

W trzeciej publikacji cyklu habilitacyjnego (P3): „Łysek-Gładysińska M, Wieczorek A, Walaszczyk A, Jelonek K, Pietrowska M, Widlak P, Kulik R, Gabryś D. *Late effects of ionizing radiation on the ultrastructure of hepatocytes and activity of lysosomal enzymes in mouse liver irradiated in vivo*”, opisano długoterminowe skutki działania promieniowania jonizującego na morfologię hepatocytów oraz aktywność enzymów lizosomalnych w wątrobie myszy po napromienianiu *in vivo*.

Uzyskane wyniki pokazały utrzymujące się zmiany ultrastrukturalne hepatocytów, takie jak zwiększona liczba autofagosomów i autolizosomów, akumulacja uszkodzonych mitochondriów ale również wzrost aktywności enzymów lizosomalnych. Obserwowane zaburzenia procesów autofagii i degradacji lizosomalnej mogą prowadzić do przewlekłych zaburzeń metabolicznych oraz zaburzenia homeostazy komórkowej wątroby, co pozostaje zgodne z wcześniejszymi doniesieniami dotyczącymi długoterminowych zmian proteomicznych i metabolicznych po ekspozycji na promieniowanie jonizujące. Dodatkowo, na podstawie wyników, Habilitantka wysunęła wniosek, że uszkodzenia hepatocytów na poziomie ultrastrukturalnym oraz zmiany parametrów biochemicznych wskazują na adaptacyjną odpowiedź komórkową na miejscowe napromienienie serca, a częściowo także wątroby. Istotnym osiągnięciem naukowym było wykazanie, że promieniowanie rentgenowskie indukuje zależne od dawki uszkodzenia organelli komórkowych oraz zmiany aktywności enzymów lizosomalnych, odzwierciedlające procesy adaptacyjne zachodzące w obrębie wątroby, wywołane pośrednimi efektami uszkodzenia serca, które pozostaje funkcjonalnie powiązane z wątrobą.

Uzyskane wyniki dostarczyły nowych informacji na temat mechanizmów odpowiedzi adaptacyjnej tkanek na promieniowanie jonizujące *in vivo* i stanowią istotny wkład w rozwój biologii radiacyjnej. Na podkreślenie zasługuje wysoki poziom innowacyjności pracy, wynikający z połączenia ultrastrukturalnej analizy hepatocytów z funkcjonalną oceną aktywności lizosomalnej w długim okresie po napromienianiu. Takie podejście umożliwia lepsze zrozumienie mechanizmów przewlekłego uszkodzenia wątroby oraz potencjalnego ryzyka rozwoju chorób metabolicznych. Jednocześnie stanowi ono stosunkowo rzadko spotykaną strategię

badawczą w literaturze, wnosząc istotny wkład w badania nad radiacyjną toksycznością narządową.

Do cyklu publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego Habilitantka włączyła jeszcze 3 prace, w których rozszerzono tematykę badania zmian morfologiczno - biochemicznych w wątrobie myszy o starzenie i efekty oddziaływania substancji chemicznych pochodzenia roślinnego. Nie tylko czynniki zewnętrzne, takie jak opisane powyżej promieniowanie, wpływają na zmiany w tkankach, istotną rolę odgrywa również sam proces starzenia.

W czwartej publikacji cyklu habilitacyjnego (P4): „Łysek-Gładysińska M, Wieczorek A, Jóźwik A, Walaszczyk A, Jelonek K, Szczukiewicz-Markowska G, Horbańczuk OK, Pietrowska M, Widłak P, Gabrys D. *Aging-related changes in the ultrastructure of hepatocytes and cardiomyocytes of elderly mice are enhanced in ApoE-deficient animals*”, Habilitantka dokonała analizy zmian zachodzących w tkance wątroby starzejących się myszy o fenotypie dzikiego typu (C57BL/6J) oraz myszy z niedoborem apolipoproteiny E (ApoE^{-/-}). Badania obejmowały analizę histologiczną, ultrastrukturalną oraz biochemiczną wątroby, odniesioną do równolegle obserwowanych zmian w sercu.

Przeprowadzona przez dr Małgorzatę Łysek-Gładysińską analiza ultrastrukturalna wykazała, że procesy starzenia prowadzą do istotnych zmian w hepatocytach i kardiomiocytach u starych myszy, przy czym zmiany te były wyraźnie nasilone u zwierząt z niedoborem ApoE. W hepatocytach obserwowano zwiększoną liczbę autofagosomów, zaburzenia struktury mitochondriów, gromadzenie lipidów oraz zmiany w strukturze siateczki śródplazmatycznej. W kardiomiocytach stwierdzono powiększenie i dysfunkcję mitochondriów, zaburzenia organizacji miofibryli oraz nasilenie procesów degeneracyjnych. Jednocześnie wykazano zahamowanie procesów autofagii w starzejących się hepatocytach, w których nie obserwowano wzrostu liczby wakuoli autofagalnych ani lizosomów wtórnych, co wskazywałoby na zwiększoną degradację lizosomalną.

W badaniach biochemicznych stwierdzono wzrost aktywności lizosomalnej β -galaktozydazy, uznawanej za marker starzenia komórkowego, przy braku istotnych różnic pomiędzy równowiekowymi myszami dzikiego typu a zwierzętami z nokautem genu ApoE. Z kolei analiza biomarkerów osocza ujawniła podwyższone stężenia cholesterolu całkowitego oraz frakcji HDL u starszych myszy ApoE^{-/-}.

Habilitantka wykazała, że fenotyp myszy ApoE^{-/-} charakteryzuje się bardziej nasilonymi zmianami związanymi ze starzeniem w tkance wątroby w porównaniu do myszy szczepu dzikiego. Wyniki te stanowią istotny wkład w poznanie mechanizmów starzenia się wątroby oraz zaburzeń metabolicznych wynikających z niedoboru apolipoproteiny E. Przyczyniają się również do lepszego zrozumienia współzależności pomiędzy procesami starzenia, funkcjonowaniem lizosomów, metabolizmem lipidów oraz uszkodzeniami mitochondriów, pogłębiając wiedzę na temat patologii metabolicznych w starzejącej się wątrobie.

Należy podkreślić, że po raz pierwszy szczegółowo porównano ultrastrukturalne zmiany związane ze starzeniem w dwóch kluczowych narządach: wątrobie i sercu. Uzyskane wyniki wpisują się w aktualny stan wiedzy dotyczący roli ApoE w regulacji metabolizmu lipidów, procesach starzenia oraz patogenezie chorób sercowo-naczyniowych. Ponadto, obserwacje ultrastrukturalne pozostają zgodne z doniesieniami naukowymi wskazującymi na mitochondrialną dysfunkcję oraz przebudowę komórkową w sercu i wątrobie zachodzącą w procesie starzenia.

W publikacjach piątej i szóstej (P5 i P6) Habilitantka zbadała efekty oddziaływania substancji chemicznych pochodzenia roślinnego na cechy biochemiczno-morfologiczne w wątrobie myszy. W publikacji „Wieczorek A, Lysek-Gładysinska M, Krol T, Kordos K, Kosińska K, Atanasov AG, Strzalkowska N, Jozwik A. *Biochemical and morphological changes in mouse liver induced by mistletoe toxins*”, przedstawiono wyniki badań nad krótkoterminowym wpływem toksyn jemioli (standaryzowany ekstrakt Iscador P) na wątrobę myszy. Analizowano aktywność hydrolaz lizosomalnych (m.in. fosfataza kwaśna, katepsyny D i L, N-acetylo- β -D-heksozaminidaza, β -D-glukuronidaza, β -D-glukozydaza) oraz cytosolowych aminopeptydaz (argininowa, leucynowa) w różnych frakcjach wątroby po 24 i 48 godzinach od podania ekstraktu w dawkach 0,1; 1; 2 mg/kg. Dokonano także oceny morfologicznej hepatocytów w mikroskopii świetlnej i elektronowej. Badanie wykazało, że Iscador P powoduje spadek aktywności większości hydrolaz lizosomalnych (z wyjątkiem katepsyn) w frakcji lizosomalnej oraz wzrost aktywności aminopeptydaz i β -D-glukuronidazy w cytosolu. Zaobserwowano relokację aktywności β -D-glukuronidazy do supernatantu frakcji lizosomalnej. W badaniu mikroskopowo-elektronowym stwierdzono w hepatocytach powiększenie mitochondriów i zwiększenie ich liczby oraz istotne zmniejszenie powierzchni

szorstkiej siateczki śródplazmatycznej. Pomimo membranotropowych właściwości wiskotoksyn, nie stwierdzono istotnego efektu labilizującego na błony lizosomalne. Poziom innowacyjności tej pracy jest wysoki, ponieważ jako jedna z pierwszych szczegółowo dokumentuje zarówno biochemiczne, jak i ultrastrukturalne zmiany w wątrobie po ekspozycji na toksyny jemioly, łącząc analizę enzymatyczną z oceną ultrastrukturalną na poziomie subkomórkowym. Wyniki dostarczają nowych danych na temat mechanizmów toksyczności naturalnych związków roślinnych i ich wpływu na funkcje lizosomalne oraz strukturę komórkową hepatocytów.

W szóstej, ostatniej publikacji cyklu habilitacyjnego: „, Tewari D, Józwick A, Łysek-Gładysińska M, Grzybek W, Adamus-Białek W, Bicki J, Strzałkowska N, Kamińska A, Horbańczuk OK, Atanasov AG. *Fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) Seeds dietary supplementation regulates liver antioxidant defense systems in aging mice*”, opisano badanie, w którym suplementacja diety nasionami kozieradki u starych myszy wpłynęła na układ antyoksydacyjny w wątrobie. Praca dokumentuje, że podawanie nasion kozieradki prowadzi do regulacji aktywności enzymów antyoksydacyjnych (m.in. SOD, katalaza, glutation peroksydaza) oraz zmniejszenia markerów stresu oksydacyjnego w wątrobie starzejących się zwierząt. Wskazuje to na potencjał kozieradki w ochronie wątroby przed zmianami związanymi ze starzeniem, poprzez modulację szlaków antyoksydacyjnych i redukcję uszkodzeń oksydacyjnych. Poziom innowacyjności tej pracy jest wysoki, ponieważ jako jedna z pierwszych szczegółowo analizuje wpływ suplementacji nasionami kozieradki na układ antyoksydacyjny w wątrobie w kontekście procesu starzenia, wykorzystując model zwierzęcy. Wyniki są zgodne z aktualną wiedzą o szerokim spektrum działania kozieradki, w tym jej właściwościach antyoksydacyjnych i hepatoprotekcyjnych, potwierdzonych w badaniach na zwierzętach i w analizach fitochemicznych. Praca wnosi istotny wkład do badań nad naturalnymi interwencjami dietetycznymi w profilaktyce zaburzeń metabolicznych i degeneracyjnych związanych ze starzeniem.

Podsumowanie

Cykl badań przeprowadzonych przez dr Małgorzatę Łysek-Gładysińską obejmuje analizę zmian ultrastrukturalnych i biochemicznych zachodzących w hepatocytach myszy pod wpływem różnych czynników uszkodzających, takich jak

promieniowanie jonizujące, toksyny pochodzenia roślinnego oraz proces starzenia. Badania te wpisują się w aktualny nurt badań nad mechanizmami przewlekłego uszkodzenia wątroby i dostarczają interesujących danych dotyczących roli autofagii, stresu oksydacyjnego oraz dysfunkcji mitochondriów w patofizjologii tego narządu. W pierwszej części cyklu publikacji (P1–P3) autorka przedstawiła wyniki dotyczące krótkoterminowych i długoterminowych skutków napromieniania, wskazując m.in. na wzrost liczby autofagosomów i autolizosomów, akumulację uszkodzonych mitochondriów oraz zmiany aktywności enzymów lizosomalnych zależne od dawki promieniowania. W kolejnych pracach (P4–P6) zakres badań został rozszerzony o wpływ starzenia oraz działanie wybranych substancji pochodzenia roślinnego, takich jak toksyny jemiioły oraz suplementacja nasionami kozieradki. Wykazano m.in. nasilone zmiany ultrastrukturalne u starszych myszy z niedoborem ApoE, obejmujące zaburzenia mitochondriów, gromadzenie lipidów oraz zahamowanie procesów autofagii, a także modulację enzymów antyoksydacyjnych i redukcję markerów stresu oksydacyjnego po suplementacji kozieradką.

Na podkreślenie zasługuje fakt, że przedstawione badania łączą analizę ultrastrukturalną hepatocytów z oceną aktywności enzymatycznej oraz markerów autofagii, co umożliwia wieloaspektową interpretację procesów zachodzących w komórkach wątroby. Takie podejście badawcze stanowi interesujące uzupełnienie badań z zakresu biologii radiacyjnej, toksykologii mechanistycznej oraz patofizjologii przewlekłych chorób wątroby.

Jednocześnie należy zauważyć, że niektóre elementy analizy morfologicznej oraz zastosowane podejścia metodologiczne mogłyby zostać szerzej rozwinięte. Dotyczy to przede wszystkim rozszerzenia oceny ultrastrukturalnej o inne struktury wątroby i hepatocytów, bardziej pogłębionej analizy procesu autofagii oraz uwzględnienia ograniczeń wynikających z zastosowanego modelu zwierzęcego. Pomimo wskazanych uwag przedstawiony cykl publikacji stanowi spójny tematycznie i wartościowy wkład w badania nad mechanizmami uszkodzenia wątroby oraz rolą stresu oksydacyjnego i procesów autofagicznych w patofizjologii tego narządu.

Wniosek końcowy

Po zapoznaniu się z dostarczoną mi dokumentacją uważam, że przedstawione osiągnięcie naukowe i całokształt dorobku naukowego, organizacyjnego i dydaktycznego dr Małgorzaty Łysek-Gładysińskiej spełniają wymogi ustawowe określone dla osób ubiegających się o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

Wniosuję do Rady Naukowej Instytutu Biologii Wydziału Nauk Ścisłych i Przyrodniczych Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach o dopuszczenie dr Małgorzaty Łysek Gładysińskiej do dalszych etapów procedury związanej z nadaniem tego stopnia.

Prof. dr hab. n. med. Małgorzata Frontczak-Baniewicz

